Münster 1935 No 69 Med DiSS

Aus dem Hygienischen Institut
der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster i. W.
Direktor: Professor Dr. K. W. Jötten

Vergleichende Untersuchungen über die langen Milchsäurebazillen der Vagina, der Zahnkaries und des Säuglingsstuhls.

INAUGURAL-DISSERTATION

zur
Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde
an der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster i. W.

vorgelegt von

Albert Gunst
Zahnarzt aus Melle.

1934.

Gedruckt in der Dissertationsdruckerei Robert Kleinert, Quakenbrück.

Dekan: Prof. Dr. E s c h.
Referent: Prof. Dr. K. W. J ö t t e n.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster (Westf.)

Die meisten Schleimhäute, wie die des Mundes, des Darms und der Scheide, sind reichlich von Bakterien belebt. Jedes Ausstrichpräparat von einer dieser Schleimhäute zeigt uns das. Früher ging man bei der Benennung meist in der Weise vor, daß man die Bakterien nach ihrem Fundorte benannte, obwohl sich später zeigte, daß sie mit Bakterien, die an anderen Stellen gefunden werden, identisch sind. So erging es auch dem Bacillus acidophilus. Dieser wurde von Döderlein als der Döderleinsche Vaginalbazillus beschrieben. Jötten wies nach, daß der Döderleinsche Vaginalbazillus mit dem Bacillus acidophilus des Säuglingsstuhls identisch ist. Nach Kruse, Nißle u. a. gehört er zur Gruppe der langen Milchsäurebazillen. Er wächst unter aeroben und anaeroben Bedingungen bei 37°. Gewöhnlicher Agar und Nährgelatine sind zur Kultur wenig geeignet. Weit besser sind zweiprozentiger Traubenzucker- und Bierwürze-Agar. Sporen entwickelt er nicht. Zur Isolierung hat Heimann, Finkelstein u. a. eine Vorkultur in einer Nährbouillon von ph = 7,6 empfohlen, der ½ bis 1 % Essigsäure zugesetzt wird und außerdem noch 2 % Traubenzucker. Nach Basten findet man nach 24 Stunden Brutschrankaufenthalt neben dem Bacillus acidophilus noch einzelne Exemplare von Enterokokkus, Bacillus bifidus und Bacterium lactis aerogenes. Nach 72 Stunden dagegen sind nur noch Bacillus acidophilus kulturell nachweisbar.

Aus der elektiven Wirkung dieser Vorkultur darf man aber ebensowenig wie aus dem Namen des Bacteriums den Schluß ziehen, daß es saure Nährböden bevorzugt oder gar verlangt. Sie dienen lediglich zur Reinzüchtung des Bacillus acidophilus. Denn dieser ist widerstandsfähiger gegen die Säurewirkung als die übrigen Bakterien. Das geht auch aus dem von Kruse angestellten Versuch hervor, der eine auf Zucker-Agar gezüchtete Reinkultur in essigsaure Bouillon überimpfte. Dabei stellte sich heraus, daß der Acidophilus dann kaum noch die Fähigkeit besitzt, im sauren Nährboden zu wachsen.

Auf Traubenzucker-Agar bildet der Keim teils hellgelbe, glattrandige, etwas erhabene, kleine, teils flachere Kolonien mit dunklem Zentrum und geflechtartigem Rand. Bei weitere Ueber-

impfung stellt Basten beide Kolonientypen fest, die ineinander übergehen.

Der Bacillus acidophilus ist apathogen. Denn nach Finkelstein konnte eine Pathogenität bei gewöhnlichen Versuchstieren noch nicht festgestellt werden.

Morphologisch zeigt er eine ausgesprochene Tendenz zum Pleomorphismus. Basten vergleicht seine Form, wie man sie in jungen Kulturen findet, mit der von Typhusbazillen, nur weise er häufig eine leichte Krümmung auf. Aeltere Kulturen zeigen größere Unterschiede in Dicke und außerdem Fadenbildung. Auch diphtheriebazillenähnliche Formen mit und ohne Polkörnchen sind bekannt und Henneberg hält den Bacillus acidophilus daher für nahe verwandt mit dem körnchenreichen Joghurtpilz. Weiß beschreibt ihn als langes, schlankes Stäbchen. Kendall und Haner konnten bei ihren Versuchen drei morphologisch verschiedene Acidophilusstämme feststellen, die sich aber kulturell fast gleich verhielten. Im allgemeinen faßt man daher die Bezeichnung Acidophilus als Sammelnamen auf. Zu ihm gehören die im Darm bei reichlicher Milchdiät vorkommenden Keime mit folgenden Merkmalen: Grampositive, unbewegliche Stäbchen mit Säuretoleranz, die besonders auf zuckerhaltigen Nährböden wachsen.

Der Bacillus acidophilus ist ferner in der Mundhöhle des Menschen nachgewiesen worden. Neben dem Streptokokkus lacticus gehört er zu den Milchsäureerregern, welche bei der Zahnkaries ätiologisch beteiligt sind. Nach Hilgers stimmt er mit dem Bacillus necrodentalis Goadby überein.

Moro fand ihn in den Ausführungsgängen der Brustdrüsen und Naujoks im Vaginalsekret von ⅔ der von ihm untersuchten Schwangeren. Naujoks berichtet ferner, daß er den Bacillus acidophilus im Rectum des Säuglings schon nach 4 Tagen, in der Mundhöhle dagegen nie vor dem 7. Tage nachweisen konnte, so daß die Ansiedlung im Darm von der Mundhöhle aus nicht wahrscheinlich sei. Auch nach Sittler dringt der Keim zuerst vom Anus aus ein.

Um Klarheit in diese verschiedenen Ansichten zu bringen, stellte ich vergleichende Untersuchungen über den Vaginalbazillus Döderleins, den Bacillus acidophilus der Zahnkaries und den des Säuglingsstuhles an.

Zur Züchtung aus dem Vaginalsekret besorgte ich mir aus der hiesigen Universitäts-Frauenklinik von gesunden Schwangeren Vaginalabstriche. Mit diesen beimpfte ich Bouillonröhrchen mit 2 % Traubenzucker- und ½—1 % Essigsäurezusatz, wie sie von

Heimann und Finkelstein empfohlen sind. Diese Vorkultur zur Reinzüchtung ist deshalb geeignet, weil der Döderleinsche Vaginalbazillus widerstandsfähiger gegen die Säurewirkung ist als die übrigen Bakterien der Vagina, die ihr schon sehr bald zum Opfer fallen. Auf einem gleichzeitig angefertigten Ausstrichpräparat fand ich neben gramfesten Stäbchen gramfreie Kokkenformen und gramfreie Stäbchen. Nach 24stündigem Brutschrankaufenthalt bei 37° zeigte ein Ausstrichpräparat nur noch gramfeste, etwas dickere, gleichmäßige, teilweise gebogene Stäbchen, die in langen, bis zu zehngliedrigen Ketten hintereinanderlagen. Aus diesen Vorkulturen züchtete ich nun insgesamt zehn Reinkulturen von Vaginalstäbchen.

In gleicher Weise züchtete ich aus kariösen Zähnen Reinkulturen des Bacillus acidophilus. Hier fand ich nach 24stündigem Brutschrankaufenthalt bei 37° auf dem Ausstrichpräparat noch starke Verunreinigungen durch Kokken. Nach 72stündigem Brutschrankaufenthalt der Vorkultur zeigte das angefertigte Präparat nur noch gramfeste Stäbchen von der oben geschilderten Form und Lagerung. Auch hiervon legte ich mir auf 2proz. Traubenzucker-Agarplatte insgesamt zehn Reinkulturen an.

Bei der Züchtung des Bacillus acidophilus aus dem Säuglingsstuhl wandte ich die von Basten angegebene Versuchsordnung an. Danach werden 5 Oesen Stuhl in 1 ccm Bouillon verrieben. Von der Emulsion wird ein Ausstrichpräparat angefertigt und nach Gram gefärbt. Mit einer Oese wird eine 2proz. Traubenzucker-Agarplatte beschickt. Dann werden von je 0,1 ccm der Emulsion drei parallele Verdünnungsreihen von 10 Verdünnungen 1:10, 1:100, 1:1000 usw. in Röhrchen mit je 1 ccm Bouillon angesetzt. Die dritte Reihe wird dann, um einen elektiven Nährboden für den Bacillus acidophilus zu erhalten, mit je 10 ccm ½—1proz. essigsaurer Traubenzuckerbouillon beschickt. Nach 72 Stunden Brutschrankaufenthalt fand ich auch hier in allen Fällen die typischen gramfesten Stäbchen, von denen ich zehn Reinkulturen auf 2proz. Traubenzucker-Agarplatte anlegte. Diese drei Gruppen wurden nun in morphologischer und biologischer Hinsicht miteinander verglichen.

Auf gewöhnlichem Nähragar war kein Wachstum festzustellen. Auf 2proz. Traubenzucker-Agar dagegen konnte man schon nach 24 Stunden längs der Impfstriche kleinste, glashelle Kolonien beobachten, von der Form, wie sie Jötten beschrieben hat. Ein Unterschied zwischen den drei Gruppen bestand nicht. Bei allen angelegten Kulturen waren auf dem Ausstrichpräparat von Plattenkulturen nach Gram gefärbte, kürzere und längere,

mittlere und dünnere, teilweise gebogene Stäbchen festzustellen, die entweder in Haufen, in Fäden oder in Ketten angeordnet waren. Bei älteren Kulturen nahm die Gramfestigkeit ab. Die dickeren, langen und kurzen Formen verschwanden, und das Ausstrichpräparat wurde von dünnen, häufig gebogenen Stäbchen beherrscht. Dabei war bei den einzelnen Stämmen kein konstantes Bild vorhanden, sondern man fand bei allen die oben angeführten Variationen.

Auch die Zuckerbouillonkulturen ergaben mannigfaltige Bilder. Bei gewöhnlicher alkalischer Bouillon wuchsen weder Vaginalstäbchen noch der Bacillus acidophilus, während bei Traubenzuckerbouillon schon nach 24 Stunden Brutschrankaufenthalt eine Trübung zu sehen ist. Im Ausstrichpräparat von frischen Kulturen findet man vorwiegend gramfeste, kürzere und längere dicke Stäbchen, bei älteren Kulturen dagegen längere, zarte Fäden in Kettenform. Auch hier sind, je älter die Kulturen, desto weniger gramfeste Formen vorhanden. Unterschiede zwischen den drei Gruppen sind auch bei den Zuckerbouillonkulturen nicht festzustellen.

Wie der Bacillus acidophilus wachsen auch die Vaginalstäbchen Döderleins in 2proz. Traubenzuckerbouillon, der ½ % Essigsäure zugesetzt wird. Daher kann dieser von Heimann angegebene Nährboden auch in der von Basten vorgeschlagenen Weise zur Züchtung der Vaginalbazillen angewandet werden.

Milch soll sowohl von dem Acidophilus wie vom Vaginalbazillus zur Gerinnung gebracht werden, und zwar von dem letzteren sofort, während durch den ersteren erst nach Ablauf von drei Tagen. Zur Feststellung dieser Tatsache beimpfte ich Röhrchen mit je 10 ccm dreimal sterilisierte Kuhmilch mit den 30 verschiedenen Stämmen der drei Gruppen und ließ sie 20 Tage bei 37° bebrüten. Wie die Tabelle 1 zeigt, tritt die Gerinnung nicht immer ein, denn selbst nach Ablauf von 20 Tagen Brutschrankaufenthalt war von 10 Vaginalstämmen bei einem, von 10 Acidophilusstämmen der Zahnkaries ebenfalls bei einem und bei 10 Acidophilusstämmen aus dem Kinderstuhl bei drei Röhrchen keine Gerinnung eingetreten.

Bei der Feststellung des Säuerungsgrades ging ich folgendermaßen vor: Die Milch wurde filtriert, Phenolphthalein als Indikator zugesetzt und der Säuerungsgrad mittels n/10 Natronlauge festgestellt. Dabei ergab sich, daß bei den nicht geronnenen Röhrchen nur wenig, bis zu 3,6 ccm n/10 NaOH zur Neutralisation erforderlich waren, während die geronnenen eine weit größere Menge n/10 NaOH zur Neutralisation benötigten.

Tabelle 1.

Verhalten der Vaginalbazillen und des Bacillus acidophilus der Zahnkaries und des Bacillus acidophilus des Säuglingsstuhls in Milch.

Stamm-Nummer	Ursprung	Milch geronnen nach 20 Tagen	n/10 NaOH Säurung in ccm
1	Vagina	+	6,0
2	„	+	8,5
3	„	—	2,5
4	„	+	12,5
5	„	+	14,1
6	„	+	4,1
7	„	+	8,0
8	„	+	15,1
9	„	+	9,5
10	„	+	8,1
11	Zahnkaries	+	8,5
12	„	+	10,9
13	„	+	13,5
14		fällt aus	
15	„	+	12,0
16	„	—	3,3
17	„	+	10,5
18	„	+	11,5
19	„	+	6,75
20	„	+	10,3
21	Stuhl	+	10,5
22	„	+	9,6
23	„	—	2,5
24	„	—	2,25
25	„	—	3,5
26	„	+	4,6
27	„	+	13,7
28	„	+	11,0
29	„	+	10,0
30	„	+	11,2
Kontrolle	Kontrolle	—	1,8
„	„	—	2,1
„	„	—	1,9

Der Verbrauch bewegte sich zwischen 4,1 und 15,1 ccm n/10 NaOH. Eine Gleichmäßigkeit bezüglich der Säuerung war also nur insofern festzustellen, als bei allen drei Stammesgruppen dieselbe in gleich unregelmäßiger Weise eintrat. Sie fehlte dagegen bezüglich des Säuerungsgrades und der Gerinnung. Letztere kann auch wohl nicht zur Differentialdiagnose zwischen den in Frage stehenden Gruppen herangezogen werden.

Aehnliche Unterschiede wie bei den Milchröhrchen waren auch in den Röhrchen zu beobachten, die mit je 10 ccm 1proz. Milchzuckerbouillon, einem Tropfen Lakmusmolke und je einer Oese frischer Kultur beschickt und acht bezw. vierzehn Tage bei 37° gehalten waren. Während das gleichzeitig eingestellte unbeimpfte Kontrollröhrchen keinen Farbumschlag und nur einen geringen Säuerungsgrad zeigte, war bei den meisten beimpften Röhrchen ein Farbumschlag, bei allen aber ein höherer Säuerungsgrad festzustellen. Der Aciditätsgrad betrug mindestens 2,5 ccm n/10 Natronlauge, der von den Vaginalstämmen 1, 2 und 5, den Acidophilusstämmen der Zahnkaries bei keinem und den Acidophilusstämmen des Säuglingsstuhles 22, 24 und 27 am achten Tage noch nicht erreicht war. Am vierzehnten Beobachtungstage machten nur noch Stamm 1 und 5 der Vaginalbazillen davon eine Ausnahme, wie es Tabelle 2 zeigt.

Das gleiche Ergebnis konnte dann auch bei einer weiteren Versuchsreihe mit 2proz. Traubenzuckerbouillon festgestellt werden. Von 9 Kolben mit je 200 ccm 2proz. Traubenzuckerbouillon wurden 3 mit den Vaginalstämmen 4, 6 und 8, drei mit den Acidophilusstämmen der Zahnkaries 12, 16 und 18, und 2 mit den Acidophilusstämmen des Stuhls 21 und 28 beimpft, während der neunte Kolben unbeimpft gelassen wurde. Nachdem die neun Kolben acht Tage bei 37° gehalten waren, wurden jedem 20 ccm entnommen und der Säuerungsgrad mit Phenolphthalein und n/10 NaOH festgestellt. Dabei ergaben sich, wie aus Tabelle 3 hervorgeht, wohl wieder Unterschiede der Säuerungsstärke innerhalb derselben Gruppe, aber keine zwischen den Stämmen verschiedenen Ursprungs, die zur Differentialdiagnose herangezogen werden könnten.

Tabelle 2.

Verhalten der Vaginalbazillen und der Bac. acid. der Zahnkaries und der Bac. acid. des Stuhles in 1proz. Milchzucker-Lakmusbouillon.

Stamm-Nummer	Nach 8 Tagen		Nach 14 Tagen	
	Verfärbung	Säuregrad	Verfärbung	Säuregrad
1	unverändert	2,25 ccm	unverändert	2,4 ccm
2	„	2,30	rot	3,25
3	rot	3,5	„	3,75
4	„	3,0	„	5,0
5	unverändert	2,1	unverändert	2,3
6	rot	3,0	rot	3,3
7	„	3,3	„	4,5
8	„	4,0	„	6,0
9	„	3,4	„	4,0
10	„	3,25	„	4,5
11	„	2,75	„	3,75
12	„	3,4	„	3,7
13	„	4,0	„	5,8
14		fällt aus		
15	„	3,5	„	5,0
16	„	4,2	„	5,0
17	„	3,75	„	5,25
18	„	3,5	„	5,75
19	„	3,75	„	4,5
20	„	3,1	„	4,75
21	„	2,5	„	3,25
22	unverändert	2,2	„	3,0
23	rot	2,8	„	4,6
24	unverändert	1,75	„	2,75
25	rot	2,9	„	3,75
26	„	2,5	„	5,5
27	unverändert	1,5	„	3,25
28	rot	2,5	„	5,75
29	„	2,75	„	3,75
30	„	5,0	„	4,75
Kontrolle	unverändert	1,05	unverändert	1,4

Tabelle 3.

Säuerungsversuche in 2proz. Traubenzuckerbouillon in Kolben zu je 200 ccm (nach 8 Tagen).

Titrierte Menge	Stamm	Stamm	Stamm	Stamm	Stamm	Stamm	Stamm	Stamm	Kontrolle
	4	6	8	12	16	18	21	28	
je 20 ccm	12,1	8,6	11,5	11,8	13,7	12,5	10,9	12,8	6,2
	n/10 NaOH								

Außerdem setzte ich noch Vergleichsversuche mit den einzelnen Mono- (Lävulose, Dextrose) und Disacchariden (Milchzucker, Sacharose, Mannit, Maltose) an. Bouillonlösungen mit 1proz. Zuckerzusatz und einigen Tropfen Lakmus als Indikator wurden mit je einer Oese Kultur eines jeden Stammes beimpft und dann 8 bezw. 14 Tage bei 37° im Brutschrank gehalten. Das Ergebnis dieses Versuches geht aus Tabelle 4 und 5 hervor. Fast sämtliche Röhrchen waren als Zeichen der eingetretenen Vergärung rot gefärbt. Auch hier können wir also eine Uebereinstimmung der Vaginalstäbchen, der Acidophili der Zahnkaries und der des Säuglingsstuhls feststellen.

Zum Schluß stellte ich dann noch fest, welche Säuren bei der Vergärung der Zuckerarten und der Milch entstehen. Dazu wandte ich die von Jötten angegebene Methode an. Er bediente sich der Aetherextraktion mittels Perforators, nachdem die flüchtigen Säuren durch Destillation im Wasserdampfbad entfernt waren. Zu diesem Zwecke wurden drei Kolben mit je 200 ccm 1proz. Milchzuckerbouillon bezw. mit dreimal sterilisierter Kuhmilch mit je einem Stamm der zu untersuchenden drei Gruppen geimpft und 8—10 Tage bei 37° im Brutschrank gehalten. Gleichzeitig wurde ein unbeimpfter Kontrollkolben eingestellt. Nach Verlauf von 10 Tagen wurde die geronnene Milch filtriert und von dem Milchfiltrat und den Bouillonkolben je 20 ccm entnommen, mit Phenolphthalein versetzt und dann mit n/10 NaOH titriert, um die Gesamtsäuerung festzustellen. Der Rest wurde sodann mit Phosphorsäure schwach angesäuert und im Wasserdampfstrom die etwa vorhandenen flüchtigen Säuren abdestilliert. Es wurde etwa 2½ Stunden bis zur Destillatmenge 600 ccm abdestilliert und in dieser die flüchtigen Säuren mit n/10 Natronlauge bestimmt.

Tabelle 4.

Verhalten der Vaginalbazillen, des Acidophilus der Zahnkaries und des Acidophilus des Säuglingsstuhles in 1proz. Zuckerbouillonlösungen der einzelnen Mono- und Disaccharide (8 Tage).

Stamm-Nummer	Lävulose	Dextrose	Milchzucker	Sacharose	Mannit	Maltose
1	+	++	—	—	+	+
2	+	+++	++	—	—	++
3	++	+	++	—	—	++
4	++	+++	++	—	+	+
5	+	+++	—	+	++	+
6	+	+++	+	++	++	+
7	+	+++	++	—	—	++
8	+	++	+++	—	+	++
11	+	++	+	+	+	+++
9	++	++	++	++	++	++
10	+++	++	++	+	+	+
12	+	+	++	+	+	+
13	++	+++	+++	—	++	++
14	fällt aus					
15	+	++	+++	+	—	+
16	+	++	+++	—	+	+
17	+	++	+++	—	+	++
18	+	+++	++	—	++	++
19	++	++	++	+	—	++
20	+++	++	++	+	—	++
21	+	++	+	—	—	+
22	+	++	—	—	—	+
23	++	++	+	+	+	++
24	++	—	—	—	—	+
25	+	+	+	—	+	++
26	+++	++	+	—	—	++
27	+	—	—	+	—	++
28	+	+	+	—	+	+
29	++	+	+	+	—	++
30	+++	++	+++	++	+	+++
Kontrolle	—	—	—	—	—	—

Tabelle 5.

Verhalten der Vaginalbazillen, des Acidophilus nach Zahnkaries und des Acidophilus des Säuglingsstuhls in 1proz. Zuckerbouillonlösungen der einzelnen Mono- und Disaccharide (14 Tage).

Stamm-Nummer	Lävulose	Dextrose	Milchzucker	Sacharose	Mannit	Maltose
1	++	+++	—	—	+++	+++
2	+++	+++	++	—	—	+++
3	+++	+++	+++	++	+++	+++
4	+++	+++	++	++	+++	+++
5	+++	+++	—	+++	+++	+++
6	+++	+++	+++	+++	+++	+++
7	+++	+++	+++	++	—	+++
8	+++	+++	+++	+	++	+++
9	+++	+++	+++	+++	+++	+++
10	+++	+++	+++	+++	+++	+++
11	+++	+++	+++	++	+++	+++
12	+++	+++	+++	++	+++	+++
13	+++	+++	+++	—	+++	+++
14	fällt aus					
15	++	+++	+++	+++	+++	+++
16	+++	+++	+++	—	+++	+++
17	+++	+++	+++	—	+++	+++
18	+++	+++	+++	++	+++	+++
19	+++	+++	+++	+	++	+++
20	+++	+++	+++	++	+++	+++
21	+++	+++	++	+	+++	+++
22	+++	+++	++	+	—	+++
23	+++	+++	+++	++	+	+++
24	+++	++	++	+++	+	+++
25	+++	+++	+++	—	++	+++
26	+++	+++	+++	++	++	+++
27	+++	+++	++	+++	+	+++
28	+++	++	+++	++	++	+++
29	+++	++	+++	+++	+	+++
30	+++	++	+++	++	++	+++
Kontrolle	—	—	—	—	—	—

Zeichenerklärung für Tabelle 4 und 5: — = unverändert, + = schwach verfärbt, ++ = mittlere Verfärbung, +++ = rot.

Die von flüchtigen Säuren befreite Zuckerbouillon bezw. das Milchfiltrat wurden dann auf etwa 80 ccm eingedampft, die 12 bis 14 Stunden im Perforator ausgezogen wurden. Der Aether, der dabei nur schwach gelblich gefärbt war, wurde zur Trocknung mit Glaubersalz versetzt, durch Asbestrohr filtriert, abgedampft und die letzten Reste mit Gummigebläse entfernt. Die restierende, gelb gefärbte sirupöse Flüssigkeit wurde mit Wasser auf 30 ccm aufgefüllt. 10 ccm davon wurden mit n/10 NaOH zwecks Feststellung der in ihnen enthaltenen Säuren titriert. Um die darin enthaltene Milchsäure zu bestimmen, wurden die restlichen 20 ccm mit Zinkkarbonat versetzt und längere Zeit gekocht. Zur Entfärbung wurden kleinere Mengen Tierkohle zugesetzt und heiß filtriert. Der erste Teil wurde nach Abkühlung polarisiert. Die Polarisation ergab in allen Versuchsgruppen bei allen geprüften Stämmen überhaupt keine Drehung. Die gebildete Milchsäure bezw. die Zinklaktate waren also optisch inaktiv.

Der Zinkrückstand wurde weiterhin mit kleinen Mengen Wasser ausgewaschen. Das Filtrat wurde dann in gewogener Porzellanschale bis auf 2—5 ccm bezw. bis zum Eintritt der Kristallisation eingedämpft. Jetzt wurde 1 ccm heißen Wassers zugesetzt, und nach kräftigem Durchrühren die Schälchen über Nacht zur Kristallisation beiseite gesetzt. Am anderen Tage wurde die Mutterlauge abgegossen, der Kristallrückstand mit kaltem Wasser, Alkohol und Aether gereinigt und von den gereinigten Kristallen Ausstrichpräparate in Wasser auf Objektträgern angefertigt. Unter dem Mikroskop zeigten sich bei allen Stämmen große rhombische Kristalle. Die in derselben Weise behandelten Kontrollproben ergaben niemals eine Kristallisation.

Nachdem der Rückstand in der Porzellanschale über Nacht bei 38° gestanden hatte, wurde er bis zur Gewichtskonstanz gewogen und zur Bestimmung der Kristallwassergehaltes bei ca. 110° zwei Stunden lang getrocknet. Um reines NO zu erhalten, wurde der Rückstand mit HNO_3 aufgenommen, diese vorsichtig abgeraucht und solange im Bunsenbrenner geglüht, bis der Zinkoxydrückstand die typische gelbliche Farbe angenommen hatte. Nach Abkühlung im Exsikkator färbte sich der Rückstand des ZnO wieder weiß, wurde gewogen, und daraus die Menge prozentual berechnet.

Wie Tabelle 6 und 7 zeigen, ergaben alle Versuche mit den Vaginalstäbchen, den Acidophili der Karies und dem des Säuglingsstuhles sowohl bei der Milch als auch bei der Milchzuckerbouillon weiße Kristalle in Form großer Rhomben. Die ge-

trockneten Zinklaktatrückstände ergaben einen Wassergehalt von ungefähr 18,5 %. In den Glührückständen waren etwa 27,66 % ZnO enthalten.

Tabelle 6.

Quantitativer und qualitativer Säurenachweis in je 200 ccm 1proz. Milchzuckerbouillon nach 10 Tagen Brutschrankaufenthalt.

Stamm-Nummer	Säurebildung in 20 ccm in ccm n/10 NaOH	flüchtige Säuren in 180 ccm in ccm n/10 NaOH	Säuerung im Extr. auf 30 ccm gebracht in 10 ccm in ccm n/10 NaOH	Zinklaktat = g	bei 110° C getrocknet = g	= % Wasser	Glührückstand = ZnO g	= % ZnO	Mikroskop.	Polarisation
5	9,5	10,6	6,3	0,491	0,395	19,0	0,138	28,12	lange Rhom- ben	±
12	9,1	9,4	13,9	0,076	0,061	20,0	0,0215	28,28		±
23	4,8	4,5	11,1	0,360	0,293	18,6	0,0986	27,38		±
Kontrolle	2,5	4,3	7,9	0,071	0,0651	8,3	0,0215	30,28	keine Kristalle	— 0,1

Tabelle 7.

Qualitativer und quantitativer Säurenachweis in je 200 ccm Milch nach zehntägiger Bebrütung bei 37°.

Stamm-Nummer	Gesamtmenge d. Filtrats in ccm	Säurebildung in 10 ccm in ccm n/10 NaOH	flüchtige Säuren im Filtrat in ccm n/10 NaOH	Säuerung im Extr. auf 50 ccm gebr. davon in 5 ccm in ccm n/10 NaOH	Zinklaktat = g	bei 110° C getrocknet = g	= % Wasser	Glührückstand = ZnO g	= % ZnO	Mikroskop.	Polarisation
5	120	12,3	17,7	11,8	0,372	0,304	19,2	0,102	27,83	Rhom- ben	±
12	95	15,7	21,1	17,3	0,356	0,291	17,1	0,968	27,19		±
23	105	8,6	12,2	9,8	0,721	0,594	17,6	0,196	27,18	große	±
Kontrolle	180	5,2	7,8	4,3	0,853	0,754	11,6	0,257	28,93	keine Kristalle	0,3

Nach Abderhalden enthält das Zinklaktat der optisch inaktiven Milchsäure $(C_3H_5O_3)_2$ Zn + $3H_2O$ = 18,8 % Wasser und 27,27 % Zinkoxyd. Wenn man die oben in den Tabellen angeführten Ergebnisse damit vergleicht, so handelt es sich bei den in den Versuchen gebildeten Säuren um optisch inaktive Milchsäure, was auch aus dem Polarisationsergebnis hervorgeht. In dem unbeimpften Kontrollkolben der Milchzuckerbouillon stellte ich dagegen eine geringe Drehung nach links fest mit 8,3 % Kristallwasser und 30,28 % Zinkoxyd. Dasselbe war bei der Milchkontrolle der Fall. Diese wies — 0,3 Drehung mit 11,6 % Kristallwasser und 28,93 % Zinkoxyd auf.

Denselben Versuch stellte ich mit Kolben an, die mit je 50 ccm Glykogenbouillon gefüllt und dann mit den drei Bakteriengruppen beimpft, 10 Tage bebrütet und nach derselben Versuchsanordnung von Jötten ausgewertet wurden. Auch hierbei stellte ich, wie Tabelle 8 zeigt, große rhombische Kristalle, einen Kristallwassergehalt von 18,02 % und einen Zinkoxydwert von 27, 47 % fest, wie sie der optisch inaktiven Milchsäure ungefähr entsprechen.

Tabelle 8.

Quantitativer und qualitativer Nachweis der Säurebildung in je 50 ccm 1proz. Glykogenbouillon nach zehntägiger Bebrütung bei 37 °.

Stamm-Nummer	Säurg. in 50 ccm in ccm n/10 NaOH	flüchtige Säuren im Aetherextr. (50 ccm) in ccm n/10 NaOH	Säuerung d. Aetherextr. a. 50 ccm gebr. in ccm n/10 NaOH	Zinklaktat = g	bei 110 ° C getrocknet = g	= % Wasser	Glührückstand = ZnO g	= % ZnO	Mikroskop.	Polarisation
5	9,8	1,2	10,1	0,0335	0,0276	17,61	0,0085	27,30	lange	±
19	11,9	1,1	10,2	0,0371	0,0305	17,97	0,0102	27,49	Rhom-	±
24	11,4	2,15	9,7	0,0402	0,0327	18,66	0,0111	27,61	ben	±
Kontrolle	5,6	0,9	7,5	0,0325	0,0295	9,33	0,0098	30,15	keine Kristalle	±

Zusammenfassung.

Wenn man das Ergebnis der angestellten Versuche überblickt, so ist eine Uebereinstimmung des Döderleinschen Vaginalbazillus, des Bazillus acidophilus, der Zahnkaries und des Bazillus acidophilus des Brustmilchstuhls wohl nicht von der Hand zu weisen. Es handelt sich demnach um ein und dasselbe Bakterium, das nur verschiedene Namen trägt. Es gehört zur Gruppe der langen Milchsäurebazillen, zu denen es ja auch von Kruse, Nißle u. a. gerechnet wird. Von denselben Autoren ist auch für verschiedene andere Angehörige der langen Milchsäurebazillengruppe eine äußerst nahe Verwandtschaft teilweise sogar Uebereinstimmung festgestellt worden. Die Haupteigenschaften dieser Gruppe bestehen in der Gramfärbbarkeit, dem Fehlen von Verflüssigungs- und Sporenbildungsfähigkeit, dem typischen schlanken Wachstum in Faden- und Kettenform, der Milchsäurebildung und der Vergärung der Mono- und Disaccharide.

Ich danke Herrn Prof. Dr. K. W. Jötten für die Ueberlassung des Themas und für die Anregungen, die ich von ihm erhalten habe.

Gleichfalls zu Dank verpflichtet bin ich Herrn Dr. Reploh, der mich bei den Versuchen mit seinem Rat unterstützt hat.

Literaturverzeichnis.

Aschoff: Inaug.-Dissertation. Münster 1932, S. 12—14.

Basten: Zeitschrift für Hygiene. 77, 1914. S. 282—284.

Finkelstein: Deutsche medizinische Wochenschrift 1900. 16. S. 263.

Henneberg: Zentralblatt für Bakteriologie. 2. Abt. 1922. 55. S. 242.

Heymann: Deutsche medizinische Wochenschrift 1900. 16. S. 263.

Jötten: Archiv für Hygiene. 91. 1922. S. 143—197.

Kendall, A. I., auch Haner, R. C.: Studies in bacterial metabolismus. 1924. S. 35.

Kruse: Einführung in die Bakteriologie. Berlin-Leipzig 1931. S. 103—104.

Naujoks: Zentralblatt für Bakteriologie. Original 1921. 86. S. 528.

Nißle: Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Jena-Berlin-Wien 1929. 6. Abschn. 8, S. 396—398.

Pasch: Archiv für Hygiene, 91. 1922. S. 159—160.

Sittler: Zentralblatt für Bakteriologie. Original 1908, 47. S. 14 und 145.

Weiß: Zentralblatt für Bakteriologie. Original 1904. 36. S. 13.

Lebenslauf.

Am 21. Oktober 1909 wurde ich als der Sohn des Hoteliers Ferdinand Gunst zu Melle geboren. Auf dem humanistischen Gymnasium Carolinum in Osnabrück erwarb ich 1930 das Reifezeugnis. Vom Sommersemester 1930 ab studierte ich in Bonn Zahnheilkunde, wo ich August 1931 die Vorprüfung bestand. Darauf besuchte ich die Universität München und die Wilhelms-Universität in Münster. Hier bestand ich im Dezember 1933 das Staatsexamen.